

Universidade de Lisboa
Faculdade de Medicina Dentária



Avaliação in-vitro de um protocolo adesivo ethanol wet-bonding

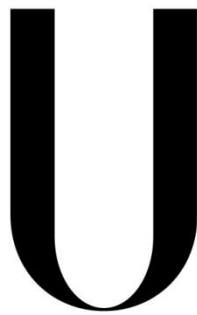
Rafaela Verdingola

Dissertação

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

2017

Universidade de Lisboa
Faculdade de Medicina Dentária



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA

Avaliação in-vitro de um protocolo adesivo ethanol wet-bonding

Rafaela Verdingola

Dissertação orientada
Pela Dra. Ana Pequeno

Mestrado Integrado em Medicina Dentária
2017

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	v
RESUMO.....	vii
ABSTRACT	ix
INTRODUÇÃO	1
• Water wet-bonding	3
• Ethanol Wet-bonding.....	4
• Testes de microtração.....	6
OBJETIVOS.....	7
MATERIAIS E MÉTODOS	9
1. Desenho do estudo.....	9
2. Preparação dos dentes	9
3. Distribuição e tratamento dos segmentos de coroa.....	11
4. Preparação dos espécimes para o teste de microtração.....	15
5. Teste de microtração.....	17
6. Análise estatística	18
RESULTADOS	19
a) Teste de microtração	19
b) Distribuição dos tipos de fratura.....	20
DISCUSSÃO.....	23
CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
ANEXOS.....	I
ANEXO I	II
ANEXO II.....	III
ANEXO III.....	IV

Lista de Tabelas, Gráficos e Figuras

Tabela 1- Grupos de teste.....	11
Tabela 2- Teste <i>Levéne</i> de avaliação da homogeneidade da variância das forças de microtração, em MPa.....	18
Tabela 3- Médias e desvio padrão das forças de microtração (MPa), por grupo.....	19
Tabela 4- Teste <i>Oneway ANOVA</i>	20
Tabela 5- Número de palitos testados de acordo com o tipo de fratura registada e fraturas pré-teste dos três grupos experimentais.....	21
Tabela 6- Número de palitos e respectivas percentagens de todos os grupos experimentais categorizados de acordo com o tipo de fratura que apresentaram.....	21
Tabela 7- Percentagem de cada tipo de fratura por grupo estudado.....	22
Tabela 8- Produtos utilizados no estudo e respetivo fabricante, composição, validade e lote.....	II
Tabela 9- Caracterização dos palitos obtidos por grupo e por dente.....	III
Gráfico 1- Diagrama de extremos e quartis das forças de microtração (MPa) dos três grupos testados. A mediana dos valores estudados está representada pela linha central e a cruz representa a média.....	19
Gráfico 2- Valores médios das forças de microtração dos três grupos experimentais.....	20
Gráfico 3- Distribuição dos palitos de acordo com o tipo de fratura de todos os grupos experimentais estudados.....	21
Gráfico 4- Distribuição das percentagens de cada tipo de fratura por cada grupo experiemental.....	22
Figura 1- Dente montado num suporte de acrílico com cera colante.....	9
Figura 2- Corte da raiz num micrótomo, cerca de 2 mm abaixo da junção amelo cementária, com exposição da câmara pulpar.....	10
Figura 3- Exposição da dentina média após o novo corte.....	11
Figura 4- Normalização da <i>smear layer</i> com disco de papel SiC de grão 600.....	11
Figura 5- Condicionamento ácido da amostra.....	12

Figura 6- Aplicação de etanol com micro-brush.....	12
Figura 7- Pipetagem de uma gota de etanol 100%.....	13
Figura 8- Aplicação de uma gota de adesivo para mistura com a gota de etanol a 100%.....	13
Figura 9- Aplicação do adesivo.....	14
Figura 10- Fotopolimerização do adesivo.....	14
Figura 11- Restauração por incrementos de resina composta.....	15
Figura 12- Corte do espécime no eixo do “x”.....	16
Figura 13- Corte do espécime no eixo do “y”.....	16
Figura 14- Palitos obtidos após o corte.....	16
Figura 15- Palito colado a um <i>jig de Geraldelli</i>	17
Figura 16- Palito colado a um <i>jig de Geraldelli</i> , durante o teste de microtração.....	17

Lista de abreviaturas

Bis-GMA	Bisfenol glicidil metacrilato
EWB	Ethanol-wet Bonding
EWBp	Protocolo progressivo de Ethanol-wet Bonding
EWBs	Protocolo simplificado de Ethanol-wet Bonding
HEMA	Hidroxietilmetacrilato
WWB	Water-wet Bonding
μTBS	Microtração

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Mestre Ana Pequeno, por toda a ajuda e orientação na elaboração deste trabalho. Sempre admirei a sua personalidade, inteligência e brio e só posso agradecer a oportunidade que me deu de ser sua orientanda e aprender consigo. Obrigada por me guiar durante este percurso e por me despertar interesse pela área laboratorial. Obrigada pela boa disposição mesmo quando surgia um obstáculo. Foi um prazer partilhar este projeto consigo e não me vou esquecer que o “R” é de *repeat*.

À Professora Doutora Sofia Arantes e Oliveira, por nos ter disponibilizado o UICOB para desenvolver a parte laboratorial e por nos ter recebido tão bem.

Ao Professor Doutor Jaime Portugal, por toda a orientação prestada e ajuda com a análise estatística.

Aos meus pais, Mariana e Rui, por todo o apoio que me deram ao longo da minha vida académica e pelo incentivo de ir sempre mais além. O caminho nem sempre foi tranquilo, mas sem a ajuda, preocupação e dedicação dos meus pais não seria exequível. Obrigada por me terem dado a oportunidade de seguir o meu sonho.

À minha irmã Marcela, a minha companheira de vida desde sempre. Não há nada na minha vida que não tenha partilhado com ela e as alegrias e tristezas que fui sentindo ao longo deste curso não são exceção. Obrigada mana por me ouvires, apoiares, distraíres e de acreditares sempre em mim. Sempre.

À minha amiga e ex-colega de casa, Vera Ferreira, por me desafiar e incentivar. Obrigada pela partilha e pelas valiosas sessões de estudo.

Ao meu amigo, Diogo Mesquita, por ouvir os meus desabafos, frustrações e pelos preciosos conselhos. Sem a tua ajuda nestes últimos anos tudo teria sido mais difícil. Obrigada pelas gargalhadas e pela força que me transmitiste sempre, mesmo quando os desafios pareciam insuperáveis. Fica na memória o companheirismo.

Aos meus colegas e amigos, Margarida Vasconcelos, João Gil Morais e Sara Gonçalves, pelo companheirismo e amizade 7 dias por semana de não sei já quantos meses. Obrigada por terem estado comigo o tempo todo, nos almoços, no estudo, nas festas, enfim...Sem a vossa amizade, preocupação e incentivo não seria quem sou hoje e não teriam sido tão divertidos estes anos que passei na nossa faculdade.

Aos meus amigos e ex-colegas, Diogo Baptista, João Nabais e João Sousa por tornarem possível uma amizade verdadeira e duradoura mesmo depois de deixarmos de ser da mesma turma. Serão sempre os colegas mais divertidos e vou guardar comigo as ótimas memórias do nosso percurso juntos.

Aos meus amigos do coração, Bernardo Saraiva, Filipa Reias, Nuno Martinho e André Pires, por alegrarem a minha vida para além da faculdade. A vossa amizade significa muito para mim. Obrigada por me ajudarem a esquecer os problemas da faculdade e me mostrarem que a vida não são só aulas. Gosto muito de vocês.

Por fim, um muito obrigada a todos os colegas que comigo integraram a AAMD, LADEL, e Comissão de Praxe.

RESUMO

Objetivos: avaliar a influencia de um protocolo *Ethanol-wet Bonding* simplificado (EWBs), utilizando etanol 70% e 96%, e compará-lo com o *Ethanol-wet Bonding* progressivo (EWBp) e com o convencional *Water-wet Bonding* (WWB), através do teste de microtração às 24h.

Materiais e Métodos: superfícies de dentina média de 15 porções de dentes humanos visivelmente livres de cárie foram divididas aleatoriamente pelos três grupos e condicionadas com ácido fosfórico a 35%. No grupo 1 aplicou-se a técnica de WWB com o sistema adesivo OptiBond™ FL, segundo as recomendações do fabricante. No grupo 2, aplicou-se a técnica *Ethanol-wet Bonding* progressiva. De seguida foi aplicado um *primer* experimental hidrofóbico combinando o adesivo OptiBond™ FL numa diluição de etanol 100%, numa proporção de 50/50. No grupo 3, grupo experimental, foi utilizado um protocolo EWB simplificado aplicando à superfície dentária crescentes concentrações experimentais de etanol: 70% e 96%, durante 30 segundos cada. No passo seguinte foi aplicado um *primer* experimental hidrofóbico combinando o adesivo OptiBond™ FL, numa diluição de etanol 96%, numa proporção de 50/50. Foram realizados os testes de microtração e registados os resultados obtidos. A análise estatística foi realizada através do teste paramétrico ANOVA. O intervalo de confiança definido foi de 95%.

Resultados: foram testados um total de 337 palitos. O teste ANOVA revelou que não existem diferenças estatisticamente significativas entre os grupos testados ($p > 0,05$).

Conclusões: Este estudo laboratorial permite concluir que não existem diferenças estatisticamente significativas entre a aplicação da técnica WWB com o sistema adesivo *gold-standard* OptiBond FL e a aplicação deste protocolo EWBs. É possível concluir também que a aplicação de concentrações de etanol a 70% e 96%, durante 30 segundos cada uma, permite obter forças de adesão imediatas estatisticamente semelhantes aos protocolos WWB e EWBp, nos testes de microtração.

Palavras chave: *Ethanol-wet bonding*, *water-wet bonding*, força de adesão

ABSTRACT

Objectives: To evaluate the influence of a simplified Ethanol-wet Bonding protocol (EWBs), using 70% ethanol and 96%, and to compare it with the progressive Ethanol-wet Bonding protocol (EWBp) and with the conventional Water-wet Bonding (WWB), through the microtraction test at 24h.

Materials and methods: middle dentin surfaces from 15 human teeth visibly free of caries were randomly divided by three groups and conditioned with 37% phosphoric acid. In Group 1, Water-wet Bonding technique was applied with the OptiBond™ FL adhesive system, according to the manufacturer's recommendations. In group 2, the Ethanol-wet Bonding progressive technique was applied. A hydrophobic primer was then applied combining the adhesive OptiBond™ FL at a dilution of 100% ethanol in a 50/50 ratio. In group 3, a simplified EWB protocol was applied to the dental surface increasing experimental ethanol concentrations: 70% and 96% for 30 seconds each. In the next step a hydrophobic experimental primer was applied combining the adhesive OptiBond™ FL in a 96% ethanol dilution in a 50/50 ratio. The microtensile tests were performed and the results obtained were recorded. Statistical analysis was performed using the parametric ANOVA test. The confidence interval was 95%

Results: A total of 337 sticks were tested. ANOVA test revealed that there were no statistically significant differences between the tested groups ($p > 0.05$).

Conclusions: This laboratory study concludes that there are no statistically significant differences between the application of the WWB technique with the gold standard adhesive system OptiBond FL and the application of this EWBs protocol. It is also possible to conclude that the application of ethanol concentrations at 70% and 96%, for 30 seconds each, allows to obtain immediate adhesion forces statistically similar to WWB and EWBp protocols, in the microtraining tests.

Key words: *Ethanol-wet bonding, water-wet bonding, bond strength*

INTRODUÇÃO

Ao longo dos últimos anos temos testemunhado um aumento da popularidade das restaurações estéticas. A crescente procura de tratamentos dentários estéticos por parte dos pacientes levou a que as restaurações em resina composta sejam amplamente utilizadas na prática clínica (Huang *et al.* 2011; Liu *et al.* 2011; Khoroushi *et al.* 2014). As constantes melhorias dos adesivos dentários e das tecnologias envolvidas na sua produção têm influenciado extensivamente a dentisteria restauradora dos dias de hoje (Cardoso *et al.* 2011; Khoroushi *et al.* 2014; Li *et al.* 2016). Apesar destes avanços, ainda não se alcançou uma adesão duradoura e fiel entre dentina e materiais restauradores de resina composta (Ayar 2016). Clinicamente, a razão mais citada como falha das restaurações adesivas é a perda de adaptação marginal, que pode levar a descoloração, recidivas de cáries e perda de retenção (De Munck *et al.* 2005; Cardoso *et al.* 2011; Khoroushi *et al.* 2014; Spencer *et al.* 2014; Göstemeyer *et al.* 2016).

O mecanismo de adesão ao esmalte e dentina prende-se, essencialmente, com a substituição dos minerais, removidos durante o ataque ácido, por monómeros de resina que passam a estar interligados nas porosidades criadas nos tecidos dentários (De Munck *et al.* 2005; L Tjäderhane 2015). A abordagem para prolongar a efetividade dos sistemas adesivos deve focar-se na melhoria da estabilidade da ligação entre os biomateriais e o substrato (De Munck *et al.* 2005). Porém, o substrato pode ser constituído tanto por esmalte como por dentina que, por terem composições diferentes, vão tornar a adesão num processo mais complexo (Perdigão *et al.* 2013). A dentina é um composto biológico poroso e húmido, constituído por cristais de hidroxiapatite envoltos numa matriz proteica que inclui uma elevada percentagem de colagénio tipo I. O esmalte é um composto principalmente mineral formado por mais de 90% em volume de cristais de hidroxiapatite (Perdigão *et al.* 2013). Se a adesão ao esmalte é segura e fidedigna, já a adesão à dentina é mais difícil e menos duradoura, devido à humidade e à sua natureza orgânica, dificultando a interação e penetração do adesivo e monómeros de resina hidrofóbicos (Liu *et al.* 2011; Perdigão *et al.* 2013; Khoroushi *et al.* 2014).

O sistema adesivo *etch-and-rinse* 3 passos é caracterizado pela aplicação inicial e isolada de um ácido ortofosfórico (30-40%) no esmalte e dentina, removido posteriormente com água. Este condicionamento ácido remove a *smear-layer*, desmineraliza a dentina até 3-5µm de profundidade, expondo a rede de colagénio (De Munck *et al.* 2005; Cardoso *et al.* 2011). Em seguida é aplicado um *primer* que contém

monómeros com propriedades hidrofílicas, como o 2-hidroxietil metacrilato (HEMA), dissolvido em solventes orgânicos como acetona, etanol ou água (Eddleston *et al.* 2003; Cardoso *et al.* 2011; Faria-E-Silva *et al.* 2012; Ayar 2014; Ayar *et al.* 2014; Tjäderhane 2015). Os monómeros HEMA aumentam a molhabilidade e promovem a re-expansão da matriz de colagénio, os solventes expulsam a água da superfície dentinária preparando esta rede para o passo seguinte de infiltração do adesivo (Eddleston *et al.* 2003; Garcia *et al.* 2005; Cardoso *et al.* 2011; Faria-E-Silva *et al.* 2012; Perdigão *et al.* 2013; Tjäderhane 2015). Com a aplicação do adesivo, ocorre a penetração de monómeros hidrofóbicos, como o Bisfenol A diglicidil metacrilato (Bis GMA), não apenas nos espaços interfibrilares da rede de colagénio, mas também nas paredes dos túbulos dentários. Após a infiltração, estes monómeros sofrem polimerização resultando na formação da camada híbrida, criando assim um meio com micro retenções ao qual se ligará mecanicamente a restauração em compósito (Cardoso *et al.* 2011; Perdigão *et al.* 2013; Tjäderhane 2015).

Os adesivos *two-step etch-and-rinse* são simplificados e conjugam o *primer* e resina num só produto, consistindo numa técnica menos elaborada, todavia comportam-se de forma inferior aos apresentados anteriormente (De Munck *et al.* 2009; Cardoso *et al.* 2011; L Tjäderhane 2015). Ao combinarem-se tais agentes, aumenta-se a quantidade de solvente e torna-se mais difícil a sua evaporação permanecendo, frequentemente, em excesso na camada híbrida após a polimerização, o que diminui as suas propriedades mecânicas e a qualidade da camada híbrida formada (De Munck *et al.* 2009; Cardoso *et al.* 2011; Li *et al.* 2016).

Existem ainda os sistemas adesivos *self-etch* programados para desmineralizar e infiltrar, simultaneamente, a superfície dentinária, propondo a aplicação do ácido combinado com o *primer* (Cadenaro *et al.* 2005; De Munck *et al.* 2005; Cardoso *et al.* 2011; Perdigão *et al.* 2013). Sendo altamente hidrofílicos, estes adesivos absorvem muita água, aumentando o potencial de degradação da camada híbrida, dificultando a formação dos polímeros no seu interior (Liu *et al.* 2011; Perdigão *et al.* 2013; Tjäderhane 2015).

Os valores descritos de força de adesão imediata com estes dois tipos de adesivos são elevados, no entanto, com o tempo, ocorre uma diminuição significativa das forças de adesão entre a dentina e a resina composta, levando ao insucesso destas restaurações (Liu *et al.* 2011).

- **Water wet-bonding**

Os principais fatores que determinam uma adequada adesão dentina-resina composta são a capacidade de molhamento da dentina pelos componentes do sistema adesivo e as ligações micromecânicas criadas entre a resina composta e a rede de fibrilhas de colagénio desmineralizadas. Com a remoção da porção mineral da dentina, estas fibrilhas ficam suspensas e suportadas por água e se esta for removida, por evaporação ou secagem com seringa de ar, a matriz de colagénio poderá colapsar (Hashimoto *et al.* 2002; Spencer *et al.* 2011). Este feito diminui a porosidade e impede a penetração dos biomateriais através da matriz desmineralizada, comprometendo o correto mecanismo de adesão (Spencer *et al.* 2011).

No início dos anos 90, o conceito de *water wet-bonding* (WWB) foi introduzido para combater os problemas do colapso do colagénio. Esta técnica pretende manter a matriz hidratada durante todo o processo de adesão, não alterando assim a morfologia da mesma. Uma vez que os espaços entre as fibrilhas estão preenchidos por água, os monómeros do adesivo terão de se infiltrar na rede de colagénio por difusão (Liu *et al.* 2011; Spencer *et al.* 2011; Mortazavi *et al.* 2012; Li *et al.* 2016). Não se conhece ao certo a fração relativa de matriz dentinária ligada e não ligada à água mas estudos demonstram que esta impregnação vai diminuindo gradualmente em profundidade. Este acontecimento deixa uma zona de fibrilhas de colagénio desprotegido debaixo e/ou no interior da camada híbrida, reduzindo a qualidade da mesma (Hashimoto *et al.* 2002; Cardoso *et al.* 2011; Perdigão *et al.* 2013; Agee *et al.* 2015). A água não é o solvente ideal para os monómeros de resina, uma vez que estes têm a sua miscibilidade limitada neste meio, resultando na separação de fases do adesivo em hidrofilicas e hidrofóbicas (Cardoso *et al.* 2011; Spencer *et al.* 2011; Ayar 2016).

Apesar da água ser um excelente solvente para re-expandir a matriz dentinária desmineralizada, o excesso de água causa, muitas vezes, fraca e incompleta polimerização dos monómeros de resina infiltrados (Cardoso *et al.* 2011; Mortazavi *et al.* 2012). Além disso, a água presente na matriz de colagénio desmineralizada funciona como um meio de degradação hidrolítica, não só das matrizes de resina como das fibrilhas, por ação de enzimas exogóneas e endógenas da matriz de colagénio, como as metaloproteínases da matriz (MMP's), comprometendo estabilidade da camada híbrida e reduzindo as forças de adesão (Hashimoto *et al.* 2002; Hosaka *et al.* 2009; Cardoso *et al.* 2011; Liu *et al.*

2011; Mortazavi *et al.* 2012; Perdigão *et al.* 2013; Tjäderhane *et al.* 2013; Tjäderhane 2015; Göstemeyer *et al.* 2016).

Estes fatores conferem uma natureza porosa à camada híbrida, que acaba por funcionar como uma membrana semipermeável, suscetível de sofrer hidrólise lenta pela água. Os adesivos com monómeros hidrofílicos produzem ainda uma adesão de fraca durabilidade, pois absorvem mais água que os adesivos hidrofóbicos, resultando em plastificação, diminuindo as suas propriedades mecânicas (Sadek *et al.* 2008; Hosaka *et al.* 2009; Osorio *et al.* 2010; Huang *et al.* 2011; Liu *et al.* 2011; Sauro *et al.* 2011; Kuhn *et al.* 2015; Tjäderhane 2015; Ayar 2016). Portanto, as camadas híbridas produzidas pela técnica WWB convencional não têm a qualidade ideal e estão sujeitas a biodegradação com o tempo, em contacto com o meio oral (Kuhn *et al.* 2015; Ayar 2016).

Para prolongar a longevidade da adesão entre dentina e resina composta, tem sido sugerido que os sistemas adesivos dentinários se tornem menos hidrofílicos. Para isso sugere-se a incorporação de monómeros de resina relativamente hidrofóbicos, por forma a torná-los compatíveis com resinas hidrofóbicas e assim, alcançar uma menor absorção de água, menor rigidez e produzindo uma adesão mais duradoura (Agee *et al.* 2006; Nishitani *et al.* 2006; Tay *et al.* 2007; Sadek *et al.* 2008; Kuhn *et al.* 2015). Alguns autores defendem que o recurso a resinas compostas hidrofóbicas associadas a um protocolo adesivo *ethanol wet-bonding* (EWB), poderá conduzir a menor absorção de água por parte dos adesivos e a uma adesão dentina-resina composta mais duradoura (Malacarne *et al.* 2006; Nishitani *et al.* 2006; Pashley *et al.* 2007; Breschi *et al.* 2008; Shin *et al.* 2009; Pashley *et al.* 2011; Ayar *et al.* 2014; Souza Júnior 2015).

- ***Ethanol Wet-bonding***

A técnica *ethanol wet-bonding* (EWB) surge como uma nova abordagem aplicada à dentina aderida com adesivos *etch-and-rinse* (Sadek *et al.* 2010a). Esta filosofia baseia-se no conceito de substituição da água residual presente nos espaços intra e interfibrilares por etanol, sem causar um colapso significativo da matriz de colagénio, para criar um substrato hidrofóbico para a posterior infiltração de monómeros de resina hidrofóbicos (Sadek *et al.* 2010a; Liu *et al.* 2011; Huang *et al.* 2011; Li *et al.* 2012; Mortazavi *et al.* 2012; Pei *et al.* 2012; Ayar *et al.* 2014; Ayar 2016). Surgem descritas na literatura alterações topográficas na matriz de colagénio quando esta é desidratada com soluções de etanol: as fibrilhas de colagénio tornam-se mais estreitas, aumentando os

espaços interfibrilares. Isto permite a difusão de moléculas de maior peso molecular presentes nos monómeros hidrofóbicos, sendo esperada uma melhoria da selagem da matriz de colagénio (Pashley *et al.* 2011; Khoroushi *et al.* 2014). Com esta técnica consegue-se ainda uma menor absorção de água e plastificação da camada híbrida e uma interface com reduzida micro permeabilidade, o que pode aumentar a longevidade da adesão resina-dentina (Liu *et al.* 2011; Mortazavi *et al.* 2012; Perdigão *et al.* 2013; Ayar 2016).

Além de prevenir a separação de fase dos monómeros de resina hidrofóbica, esta recente técnica, permite remover o meio hidrolítico necessário ao funcionamento das MMPs, podendo melhorar, assim, as condições de adesão (Becker *et al.* 2007; Pashley *et al.* 2007; Tay *et al.* 2007; Sadek *et al.* 2010a; Liu *et al.* 2011; Mortazavi *et al.* 2012)

Existem duas versões desta técnica. O método progressivo, denominado de *full chemical dehydration protocol* e desenvolvido por Sadek e seus colaboradores, sugere a substituição gradual da água por etanol através da aplicação de concentrações crescentes de etanol sobre a dentina desmineralizada e saturada de água (50, 70, 80, 95 e 100% três vezes por 30 segundos). Esta desidratação por etanol consome muito tempo de aplicação (3 a 4 minutos) e as concentrações descritas não se encontram facilmente disponíveis, dificultando o seu uso na prática clínica (Sadek *et al.* 2008; Liu *et al.* 2011; Li *et al.* 2012; Perdigão *et al.* 2013; Ayar *et al.* 2014; Ayar 2016). O protocolo simplificado pressupõe a aplicação de etanol 100%, durante um minuto à dentina com as características descritas anteriormente. Apesar de apresentar um tempo de aplicação clínico desejável, esta técnica é bastante sensível, parece não reduzir por completo a permeabilidade da dentina e também não substituir por completo a água (Liu *et al.* 2011; Li *et al.* 2012; Mortazavi *et al.* 2012). Todavia, Kuhn e seus colegas, reportaram uma reduzida microinfiltração nas camadas híbridas *in vivo* preparadas com a técnica EWB progressiva quando comparado com o tradicional WWB, o que poderá sugerir que um tempo mais longo de desidratação com etanol seja preferível (Kuhn *et al.* 2015; Ayar 2016).

Segundo Nishitani e seus colaboradores, enquanto o etanol substitui a água existente na matriz de colagénio desmineralizada, formam-se algumas pontes de hidrogénio entre o colagénio que fortalecem a matriz o suficiente para minimizar o seu colapso (Nishitani *et al.* 2006). Contudo, quando esta substituição não ocorre de forma controlada e prevenindo a exposição do colagénio ao ar, a tensão superficial formada na interface colagénio-ar pode, facilmente, provocar o colapso da matriz e prevenir a eficiente infiltração dos monómeros adesivos (Osorio *et al.* 2010; Liu *et al.* 2011).

Vários estudos têm concluído que a técnica EWB atinge valores aproximados ou superiores de forças de adesão na interface dentina-resina quando comparado com a técnica WWB (Nishitani *et al.* 2006; Hosaka *et al.* 2009; Sadek *et al.* 2010a; Huang *et al.* 2011; Liu *et al.* 2011; Li *et al.* 2012; Mortazavi *et al.* 2012; Ayar 2016).

- **Testes de microtração**

O teste de microtração foi introduzido por Sano e seus colaboradores, em 1994, e é apontado, atualmente, como o melhor teste para avaliar a adesão de restaurações em resina composta (Sano *et al.* 1994; Armstrong *et al.* 2017). Apesar de envolver a preparação de dentes após os procedimentos adesivos através de uma técnica sensível e morosa, este teste permite obter vários espécimes a partir do mesmo dente. (Ghassemieh 2008; Van Meerbeek *et al.* 2011). Além desta vantagem, os testes de microtração permitem também avaliar a adesão em diferentes regiões do dente e em áreas muito pequenas, e ainda permitem a obtenção de mais fraturas adesivas com valores elevados (Pashley *et al.* 1995; Pequeno 2009).

Os espécimes preparados para os testes de microtração podem ser palitos, com uma secção de corte quadrada, também chamados de espécimes *not trimmed*, ou podem ter outras formas como ampulheta, designados de espécimes *trimmed* (Ghassemieh 2008; Armstrong *et al.* 2017). A preparação de dentes em espécimes em forma de palito parece ser mais vantajosa que esta última (Ghassemieh 2008; Van Meerbeek *et al.* 2011). O tipo de geometria da forma de ampulheta faz com que as concentrações máximas de *stress* sejam aplicadas nas margens do adesivo, indicando que será nessa zona que a falha ocorre, ao invés de se concentrarem no centro do adesivo e estarem distribuídas uniformemente na margem adesiva, como acontece nos palitos. Assim, com os espécimes palitos *not trimmed* obtém-se um ponto de fratura e não uma zona de fratura (Ghassemieh 2008). Além disso, as concentrações máximas de stress são inferiores nos espécimes em forma de palito e estes são obtidos através de uma técnica menos sensível que a necessária à obtenção de espécimes em forma de ampulheta (Ghassemieh 2008; Van Meerbeek *et al.* 2011).

Para além da forma do espécime, fatores como a espessura do adesivo, desalinhamento do espécime no *jig* de Geraldelli e velocidade de aumento da carga durante o teste, podem influenciar também concentração de stress e as forças de adesão (Ghassemieh 2008; Van Meerbeek *et al.* 2011).

OBJETIVOS

Este estudo tem como principal objetivo avaliar a influência de um protocolo EWB simplificado, recorrendo a uma técnica mais simples e com concentrações de etanol disponíveis no supermercado, e compará-lo com o EWB progressivo e com o convencional WWB, através do teste de microtração às 24h.

A primeira hipótese nula testada é que não existem diferenças estatisticamente significativas entre as forças de adesão criadas com a técnica EWB simplificado e EWB progressivo, às 24h. A segunda hipótese nula é que não existem diferenças estatisticamente significativas entre as forças de adesão criadas com a técnica EWB simplificado e o método convencional WWB, às 24h.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Desenho do estudo

Neste estudo experimental foi utilizada uma amostra de 15 molares humanos, extraídos recentemente, intactos e sem evidência macroscópica de lesões de cárie ou restaurações. Antes de serem preparados para este estudo, os dentes foram limpos de tecidos aderentes e sangue em água corrente e armazenados numa solução de Cloramina T a 0,5% (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA), a uma temperatura de 4°C, durante uma semana, de acordo com as normas ISO/TS 11405 (ISO/TS 11405:2003). Em seguida, os mesmos foram deixados, por tempo não superior a 6 meses, em água destilada a 4°C ISO/TS 11405 (ISO/TS 11405:2003), com troca do meio aquoso.

2. Preparação dos dentes

A porção coronal dos dentes foi fixada com cera colante a um bloco de acrílico, segundo o longo eixo do dente (Figura 1). Em seguida foram feitos dois cortes, utilizando um disco de diamante a baixa rotação (IsoMet™ Diamond Wafering Blade 10,2cmx0,3mm - Series 15HC, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA), num micrótomo de tecidos duros (IsoMet® 1000 Precision Saw, Buehler Ltd. Ltd Lake Buff, IL, USA), sob constante refrigeração com água.

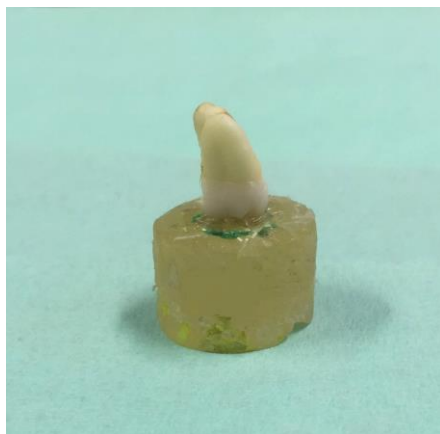


Figura 1- Dente montado num suporte de acrílico com cera colante

O primeiro corte foi feito paralelamente à face oclusal dos molares, 2 mm apicalmente à junção amelo-cementária, por forma a remover as raízes e a expor a câmara pulpar (Figura 2). Depois, as coroas foram descoladas dos blocos de acrílico e os tecidos pulparem removidos da câmara pulpar com uma cureta de dentina. A câmara pulpar foi preenchida com cola de cianoacrilato (Loctite Super Cola 3 Control, Henkel, Ibérica) e as coroas foram novamente fixadas, pela superfície seccionada, aos blocos de acrílico com a mesma cola.

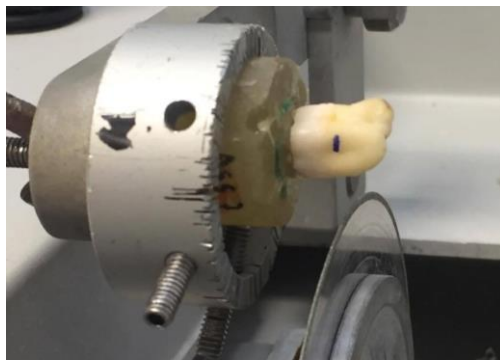


Figura 2- Corte da raiz num micrótomo, cerca de 2 mm abaixo da junção amelocementária, com exposição da câmara pulpar.

O segundo corte foi feito paralelamente ao corte anterior por forma a obter uma superfície com zona central em dentina. Este corte removeu tanto esmalte oclusal como dentina superficial destes molares (Figura 3). De seguida, esta superfície obtida foi polida com discos de papel abrasivo de carbureto de silício de grão 600 (CarbiMet™ SiC Abrasive Disk 600 [P1200] – 20,0 mm – Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA), durante 60 segundos sob irrigação com água, numa máquina polidora (DAP-U, Struers, Denmark), de acordo com as normas ISO/TS 11405 (ISO/TS 11405:2003) (Figura 4). Este procedimento foi executado sempre pelo mesmo operador.

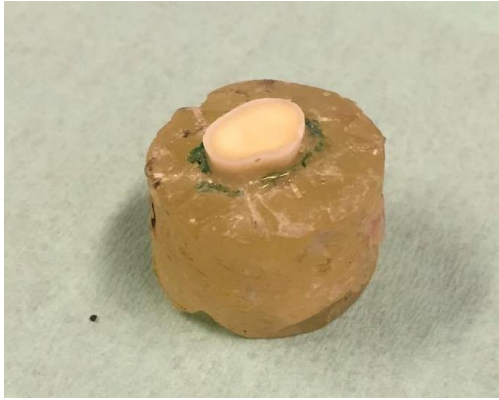


Figura 3- Exposição da dentina média, após o novo corte.



Figura 4- Normalização da *smear layer* com disco de papel SiC de grão 600

3. Distribuição e tratamento dos segmentos de coroa

Os 15 segmentos coronários foram, aleatoriamente, atribuídos a um de três grupos (n=5) consoante os diferentes mecanismos de adesão (Tabela 1). A ordem pelas quais as coroas foram tratadas foi também aleatória para evitar possíveis viéses. Estes tratamentos foram realizados pelo mesmo operador.

	Grupos de teste		
	<i>Water wet-bonding</i> (Grupo de controlo)	<i>Ethanol wet-bonding - progressivo</i> (Grupo de controlo)	<i>Ethanol wet-bonding - Protocolo simplificado 70% e 96%</i>
<i>Microtensile bond strength (μTBS)</i>	WWB (Grupo 1)	EWBp (Grupo 2)	EWBs (Grupo 3)

Tabela 1 – Grupos de teste

Em todos os grupos foi aplicado um gel de ácido ortofosfórico a 37% sobre as superfícies dentárias dos segmentos de coroa durante 15 segundos e de seguida foi feita a lavagem deste com jato de água durante 15 segundos. Utilizou-se uma bola de algodão humedecida para remover o excesso de água e uniformizar a humidade da superfície para que esta continuasse brilhante e visivelmente hidratada para prevenir o colapso da matriz de colagénio (Figura 5).



Figura 5- Condicionamento ácido da amostra

No Grupo 1, o primeiro grupo de controlo, a técnica WWB foi executada utilizando o sistema adesivo OptiBond™ FL (Kerr Itália), segundo as indicações do fabricante. O *primer* foi aplicado com um microbrush (Flexible Disposable Applicators, Kerr Applicators™), friccionando a superfície dentinária durante 15 segundos. De seguida, esta foi seca gentilmente com um jato de ar durante 5 segundos, a uma distância de 15 centímetros até restar uma película homogénea e brilhante. Se a superfície dentinária estivesse visivelmente seca, não se apresentando brilhante, uma nova camada de *primer* foi aplicada.

Aos espécimes do Grupo 2, o grupo do EWBp, após o condicionamento ácido, foram aplicadas crescentes concentrações de etanol: 50%, 70%, 80; 95%, cada uma durante 30 segundos; e por fim 3 aplicações de etanol 100%, cada uma também durante 30 segundos, perfazendo um total de tempo de aplicação 3 minutos e 30 segundos (Figura 6). Este passo foi realizado com um microbrush (Flexible Disposable Applicators, Kerr Applicators™) e garantindo sempre a visível hidratação desta superfície.



Figura 6- Aplicação de etanol com microbrush.

No Grupo 3, grupo experimental, foi aplicado um protocolo EWB simplificado. Após o condicionamento ácido, foram aplicadas à superfície dentária crescentes concentrações experimentais de etanol: 70% e 96% (Wells, Continente, Portugal). Cada concentração foi aplicada gentilmente com um microbrush (Flexible Disposable Applicators, Kerr Applicators™) durante 30 segundos, perfazendo um tempo de aplicação total de 60 segundos (Figura 6). Durante este procedimento, foi tida especial atenção para garantir que a superfície dentinária se mantinha visivelmente hidratada anteriormente à aplicação da concentração superior de etanol e também no final do procedimento.

Nos Grupos 2 e 3, após a desidratação química com etanol, foi aplicado um *primer* experimental hidrofóbico. No grupo 2, o *primer* consistiu numa diluição do adesivo (OptiBond™ FL, Kerr, Itália) em etanol 100%, numa proporção de 50/50 (Figuras 7 e 8). No grupo 3, o mesmo adesivo foi diluído em etanol 96% também numa proporção de 50/50. Este *primer* foi aplicado como descrito no Grupo 1, no entanto, a evaporação do excesso de etanol foi feita com um jato de ar durante 10 segundos a uma distância de 15 centímetros.

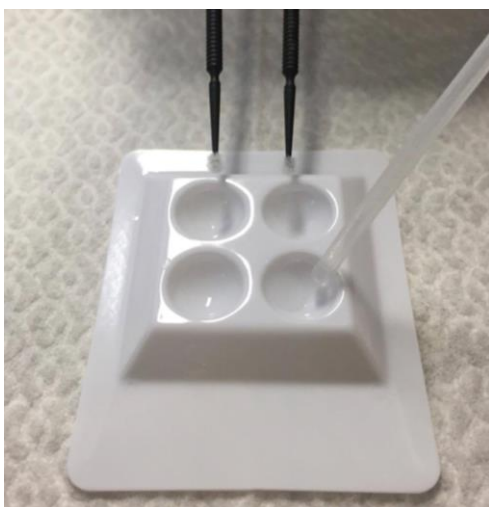


Figura 7- Pipetagem de uma gota de etanol 100%



Figura 8- Aplicação de uma gota de adesivo para mistura com a gota de etanol 100%

Seguidamente, em todos os grupos, foi aplicada uma fina camada de adesivo (OptiBond™ FL, Kerr, Itália) a toda a superfície dentinária, utilizando um microbrush (Flexible Disposable Applicators, Kerr Applicators™) e o excesso removido com o mesmo microbrush (Figura 9). O adesivo foi fotopolimerizado com o fotopolimerizador (Bluephase®, Ivoclar Vivadent, Austria) durante 20 segundos a uma intensidade de 1000 W/cm² (Figura 10). A intensidade do fotopolimerizador foi controlada frequentemente com um radiómetro (Bluephase® meter, série 001390, Ivoclar Vivadent, Liechtenatein, Austria).



Figura 9- Aplicação do adesivo.



Figura 10- Fotopolimerização do adesivo.

Procedeu-se, de seguida, à reconstrução com resina composta nanohíbrida fotopolimerizável (Ventura Nanolux Madespa, S.A Espanha), de cor A2, em 3 incrementos, o primeiro com 1mm de espessura e os dois seguintes com 2mm de espessura (Figura 11). Cada camada de resina composta foi fotopolimerizada durante 40 segundos. No final do procedimento restaurador, foi feita uma polimerização adicional de 20 segundos em cada face exposta. Todos os procedimentos de fotopolimerização foram realizados pelo mesmo operador e utilizando um fotopolimerizador LED (Bluephase®, Ivoclar Vivadent, Austria) com intensidade 1000 W/cm², a uma distância de 1 mm da superfície restaurada, tendo sido verificada a sua intensidade com frequência, através do radiómetro (Bluephase® meter, série 001390, Ivoclar Vivadent, Liechtenatein, Austria).



Figura 11- Restauração por incrementos de resina composta

4. Preparação dos espécimes para o teste de microtração

Após os procedimentos restauradores, todo o exterior das amostras foi pintado com tinta à prova de água por forma a identificar e, posteriormente, excluir os palitos nos quais a adesão foi feita em esmalte. De seguida as amostras foram armazenadas em água destilada numa estufa de incubação (TK/L 4105, EHRET GmbH & CO. KG, Germany) a 37°C, por 24 horas, de acordo com as normas ISO/TS 11405 (ISO/TS 11405:2003). A data e hora dos procedimentos restauradores foi registada.

Posteriormente, os dentes foram seccionados longitudinalmente, segundo o eixo do “x” e do “y”, com um disco de diamante (IsoMet™ Diamond Wafering Blade – 10,2 cm*0,3 mm – Series 15HC, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA), a baixa rotação e sob refrigeração com água, num micrótomo de tecidos duros (IsoMet® 1000 Precision Saw, Buehler Ltd. Ltd., Lake Buff, IL, USA), de modo a obter palitos com uma área de corte de aproximadamente 1 mm². Primeiramente, os cortes foram espaçados aproximadamente de 1 mm e orientados segundo o maior eixo do dente (direção eixo “x”) (Figura 12). De seguida, o dente foi rotacionado 90 graus e novos cortes foram feitos, espaçados como descrito anteriormente (direção eixo “y”) (Figura 13).

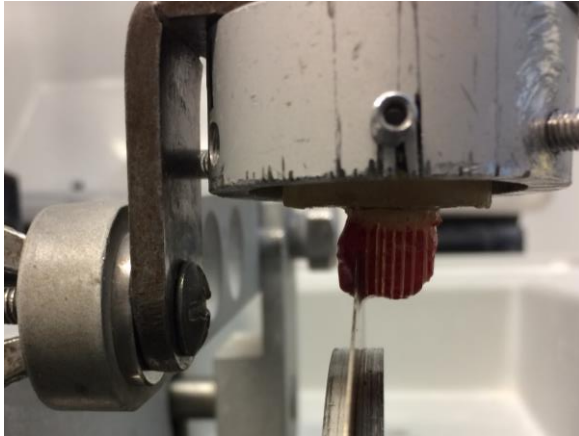


Figura 12- Corte do espécime no eixo do x.

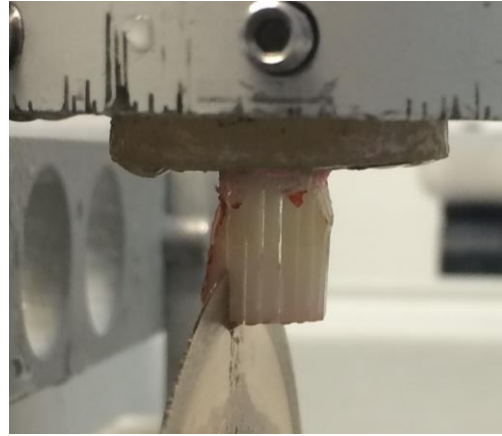


Figura 13- Corte do espécime no eixo do y.

O corte final foi realizado tangencialmente à cola de cianoacrilato, de modo a separar os palitos do suporte de acrílico (Figura 14). Registaram-se o número de fraturas pré-teste, ou seja, os palitos que se separaram na interface adesiva durante o procedimento de corte. Os palitos obtidos foram mantidos em água destilada, por um período máximo de 24 horas, até à realização do teste de microtração.



Figura 14- Palitos obtidos após o corte.

5. Teste de microtração

Cada palito foi colado individualmente a um *Jig de Geraldelli* adaptado, com cola de cianoacrilato (737 Black Magic Toughened adhesive, Permabond, Hampshire, UK) (Figura 15) e posteriormente, foram submetidos a uma força de tração, numa máquina de teste universal (Instron 4502 Series, Serial no. H3307, Instron Corporation, Canton, MA, USA), com uma célula de carga de 1 KN, a uma velocidade de 1 mm/minuto até ocorrer fratura (Figura 16).

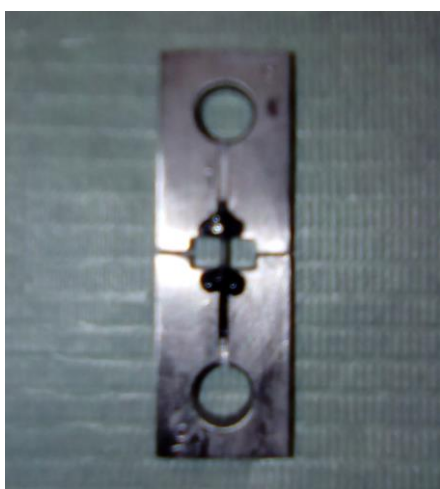


Figura 15- Palito colado a um jig de Geraldelli.



Figura 16- Palito colado a um jig de Geraldelli, durante o teste de microtração.

Após a fratura, os palitos foram removidos dos referidos suportes e medidos os dois lados da seção da fratura de cada espécime com uma craveira digital (Absolute Digimatic Caliper, Mitutoyo Corporation, Japan) para que se pudesse calcular a área da interface em mm^2 . Esta última e a carga (KN) a que cada palito foi sujeito até à fratura foi registada. De seguida, calcularam-se os valores de força de microtração em MPa.

Todas as fraturas foram observadas ao microscópio ótico (Nikon, Japan), com uma ampliação de 10X, para serem caracterizadas. As fraturas foram classificadas como: 1) adesivas (A) quando a falha ocorria na interface entre dentina e compósito; 2) mistas (M) quando a fratura envolvia tanto dentina como compósito; 3) coesivas em compósito quando a falha ocorria em compósito (CC); 4) coesivas em dentina quando a falha ocorria em dentina (CD).

6. Análise estatística

A análise estatística dos resultados foi realizada através do programa de *software* SPSS Statistics for MAC Version 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Foram realizados testes *Kolmogorov-Smirnov* e *Shapiro-Wilk* de modo a verificar a normalidade dos dados da amostra e o teste *Levene's* foi calculado por forma a determinar se existiria homogeneidade de variância.

Uma vez que a normalidade da distribuição de dados e a igualdade das variâncias foram observadas em dois grupos ($p > 0,05$), os valores de microtração foram submetidos a uma análise de variância unidirecional (ANOVA) e a um teste *Post-hoc*, Teste de *Tukey*, para comparações em pares. A significância foi estabelecida num nível de confiança de 95%.

Os palitos fraturados ou descolados prematuramente ao teste de microtração foram incluídos na análise estatística com o valor, em MPa, correspondente à metade do valor mínimo de MPa obtido durante os testes de microtração aos palitos dos três grupos (Luque-Martinez *et al.* 2014). O valor atribuído para estes palitos foi 7,48 MPa.

Teste Levene	df1	df2	Sig.
3,134	2	12	0,080

Tabela 2 – Teste Levene de avaliação da homogeneidade da variância das forças de microtração, em MPa.

RESULTADOS

a) Teste de microtração

Os valores máximos, mínimos e desvio padrão obtidos no teste de microtração (em MPa), bem como a média de cada grupo, são contabilizados na tabela 3 e apresentados no gráfico 1.

	Grupo	n	Média	Desvio-padrão	Valor mínimo	Valor máximo
MPa	WWB	5	63,35	15,58	46,39	83,65
	EWBp	5	58,02	6,82	47,17	64,89
	EWBs	5	56,48	7,82	43,33	64,25
	Total	15	59,28	10,46	43,33	83,65

Tabela 3 - Médias e desvio padrão das forças de microtração (MPa), por grupo.

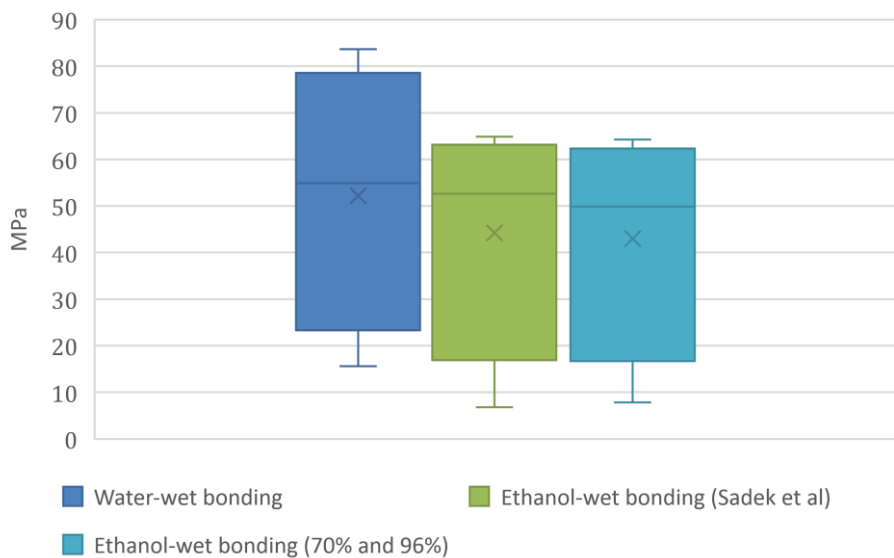


Gráfico 1- Diagrama de extremos e quartis das forças de microtração (MPa) dos três grupos testados. A mediana dos valores estudados está representada pela linha central e a cruz representa a média.

O valor médio mais elevado de força de microtração foi obtido no grupo WWB ($63,35 \pm 15,58$), apesar de não ser estatisticamente significativo de força de adesão obtida (Gráfico 2).

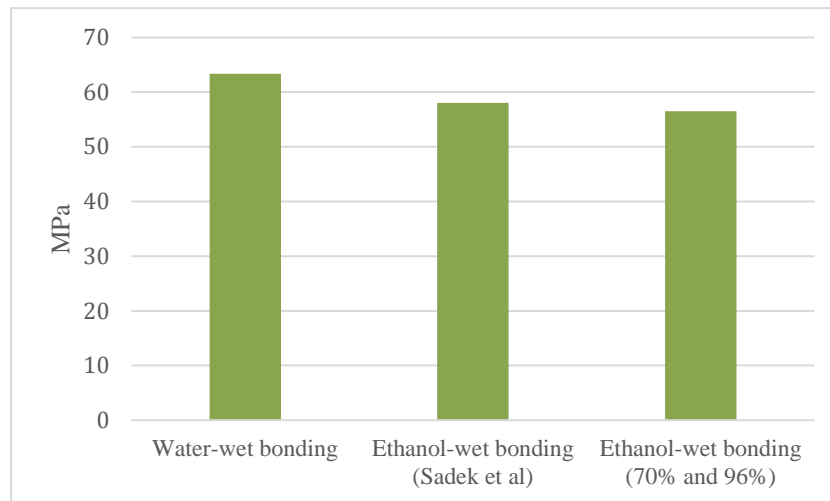


Gráfico 2– Valores médios das forças de microtração dos três grupos experimentais.

Após verificar a normalidade dos dados da amostra e a homogeneidade de variâncias, os valores foram analisados utilizando o teste ANOVA, que revelou que não existem diferenças estatisticamente significativas entre os grupos testados ($p > 0,05$) (Tabela 4). Isto significa que a hipótese nula não pode ser rejeitada.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Entre Grupos	129,97	2	64,98	0,56	0,59
Dentro dos grupos	1402,12	12	116,84		
Total	1532,08	14			

Tabela 4 – Teste *Oneway ANOVA*

b) Distribuição dos tipos de fratura

A distribuição dos tipos de fratura registados pelos diferentes grupos testados surge apresentada nas tabelas 5 e 6 e representada no gráfico 3. As percentagens de cada tipo de fratura por cada grupo estudado encontram-se apresentadas na tabela 7 e representadas no gráfico 4. Foram descritos quatro tipos de fratura: adesiva (A), mista (M), coesiva em compósito (CC) e coesiva em dentina (CD). A análise destes padrões revelou que o tipo de fratura predominante ao longo dos três grupos experimentais foi a

adesiva (87,54%). As fraturas mistas representam um total de 5,04%. As fraturas coesivas em compósito e coesivas em dentina, referentes a todos os grupos, representam um total de 5,34% e 2,08%, respectivamente.

		Tipo de Fratura				Total	Fraturas pré-teste
		A	M	CC	CD		
Grupos	WWB (1)	81	8	15	6	110	2
	EWBp (2)	114	1	1	0	116	15
	EWBs (3)	100	8	2	1	111	2
Total		295	17	18	7	337	19

Tabela 5 - Número de palitos testados de acordo com o tipo de fratura registrada e fraturas pré-teste dos três grupos experimentais.

Tipo de fratura	N	%
Adesiva (A)	295	87,54
Mista (M)	17	5,04
Coesiva em Compósito (CC)	18	5,34
Coesiva em Dentina (CD)	7	2,08
Total	337	100

Tabela 6 - Número de palitos e respectivas percentagens de todos os grupos experimentais categorizados de acordo com o tipo de fratura que apresentaram.

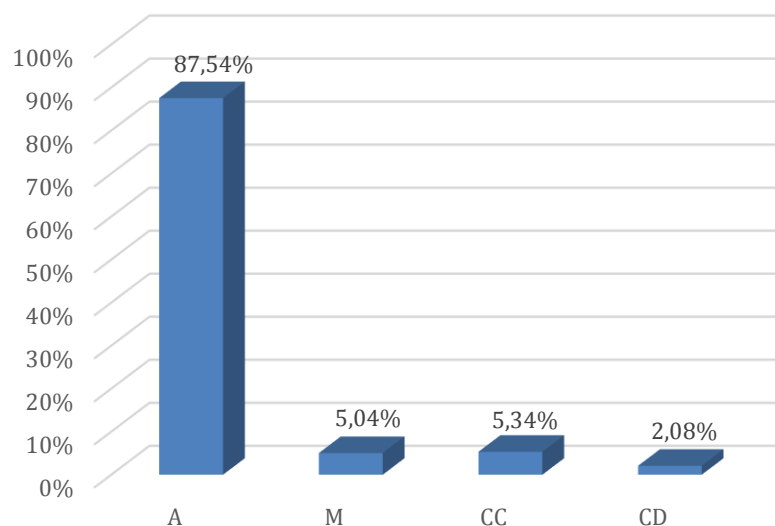


Gráfico 3- Distribuição dos palitos de acordo com o tipo de fratura de todos os grupos experimentais estudados.

Tipo de fratura	WWB	EWBp	EWBs
A	73,64%	98,28%	90,09%
M	7,27%	0,86%	7,21%
CC	13,64%	0,86%	1,8%
CD	5,45%	0	0,9%
Total	100%	100%	100%

Tabela 7- Percentagens de cada tipo de fratura por cada grupo estudado

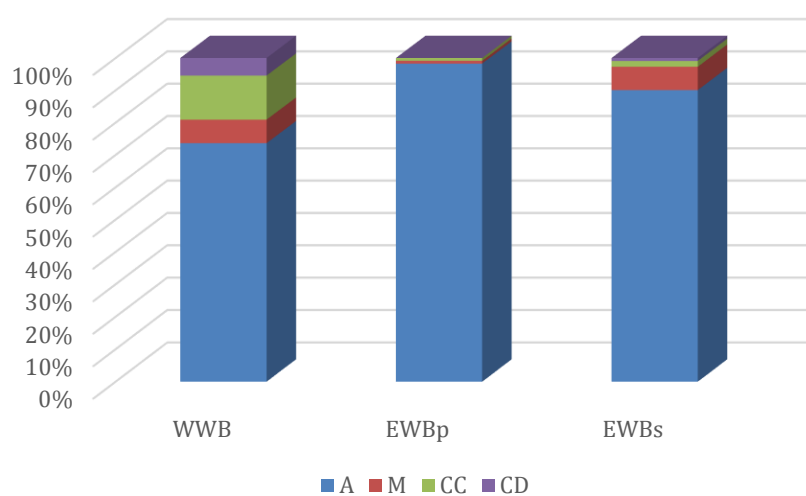


Gráfico 4- Distribuição dos palitos testados de acordo com o tipo de fratura dos três grupos experimentais.

DISCUSSÃO

A técnica EWB progressiva é ainda pouco aplicada clinicamente devido, tanto à dificuldade quanto ao tempo de aplicação clínico. Esta técnica pretende uma maior longevidade das restaurações em resina composta através da melhoria da prestação clínica dos adesivos contemporâneos, tentando ultrapassar as limitações da técnica convencional de WWB. Nos estudos de Sadek e seus colaboradores e de Ayar e seus colegas, que testaram a técnica EWB progressivo, foram obtidos resultados de força de adesão promissores, referindo potencial para melhorar a qualidade da camada híbrida, no entanto, o tempo clínico é longo e inviabiliza a sua utilização clínica (Sadek *et al.* 2008; Ayar *et al.* 2014). Devido ao elevado nível de ligações existentes na matriz dentinária, alguns autores defendem que a utilização isolada de etanol 100% é suficiente para provocar a desidratação da matriz de colagénio (Nishitani *et al.* 2006). Já Liu e seus colaboradores referem que um protocolo simplificado, aplicando etanol 100% na superfície dentinária desmineralizada e hidratada, produz menores forças de ligação quando comparado ao protocolo progressivo, apesar de mais rápida e de simples aplicação (Liu *et al.* 2011).

Neste estudo experimental procurou-se simplificar a técnica EWB defendida por Sadek e colaboradores, fazendo uso de adesivos comerciais e de concentrações de etanol facilmente disponíveis no mercado, e procurando diminuir o tempo de aplicação da técnica anterior. Para fazer cumprir os requisitos referidos anteriormente, as concentrações de etanol utilizadas neste estudo foram diferentes das referidas na literatura sobre métodos simplificados da técnica EWB. Ao invés de ser utilizado etanol a 100%, optou-se por concentrações de etanol a 70% e etanol a 96% que são, por comparação, mais acessíveis. Além disso, estas concentrações de etanol, por serem inferiores às sugeridas no protocolo progressivo, demonstram-se menos voláteis, permitindo uma gradual substituição da água (Pashley *et al.* 2007; Li *et al.* 2012).

Não existe consenso no tempo de aplicação de outros métodos simplificados de EWB na literatura, sendo apresentados estudos que aplicam etanol 100% durante 10 segundos, 20 segundos, 1 minuto e 5 minutos, na superfície dentária desmineralizada (Tay *et al.* 2007; Hosaka *et al.* 2009; Sauro *et al.* 2009; Shin *et al.* 2009; Sauro *et al.* 2010; Ayar 2016). Sauro e seus colegas concluíram que a aplicação de etanol 100% durante 1 e 5 minutos produzia efeitos semelhantes, sugerindo que tempos de aplicação superiores a 60 segundos, para esta concentração, não seriam vantajosos (Sauro *et al.* 2010). Outros

autores não recomendam a aplicação desta concentração de etanol por tempo inferior a 30 segundos, referindo que é insuficiente para a completa substituição da água contida na matriz dentinária por etanol, diminuindo a durabilidade da adesão (Sadek *et al.* 2010a; Sadek *et al.* 2010c; Ayar 2016). Uma vez que o protocolo EWB representa um passo acrescido ao método convencional de aplicação do sistema adesivo 3 passos e tendo em conta o tempo mínimo de 60 segundos para a desidratação com etanol, foi proposto neste estudo que as concentrações crescentes de etanol (70% e 96%) fossem aplicadas durante 30 segundos cada uma.

Surgem descritas na literatura diferentes formas de aplicação do *primer* na técnica EWB, não havendo um consenso sobre o tipo de *primer* a utilizar. Alguns autores aplicaram nos seus estudos *primers* comerciais (Khoroushi *et al.* 2014) mas outros autores defendem a aplicação de *primers* experimentais hidrofóbicos (Sadek *et al.* 2008; Sadek *et al.* 2010c; Sauro *et al.* 2011; Pei *et al.* 2012; Araújo *et al.* 2013). A preparação destes últimos através da diluição de diferentes tipos de adesivos em etanol a 100% é recorrente em estudos na literatura (Tay *et al.* 2007; Sadek *et al.* 2010a; Sadek *et al.* 2010c; Sauro *et al.* 2011; Pei *et al.* 2012). Por essa razão, no grupo de EWB progressivo deste estudo, o *primer* experimental foi obtido através da diluição do adesivo OptiBond™ FL (Kerr, Itália) em etanol 100%, numa proporção de 50/50. Já no grupo experimental EWB simplificado, a concentração escolhida para a diluição do mesmo adesivo e nas mesmas proporções foi etanol numa concentração de 96%, respeitando a filosofia apresentada para este mesmo grupo. A criação de *primers* experimentais sem água na sua composição permitiu a aplicação de um *primer* compatível com a técnica EWB e de composição diferente do *primer* hidrofílico utilizado na técnica WWB (Sadek *et al.* 2010). Alguns estudos laboratoriais demonstraram, ainda, que a desidratação da dentina com etanol previamente à colocação do *primer* experimental e adesivo produzia maiores forças de adesão na interface dentina-resina composta que as forças alcançadas com técnicas adesivas convencionais (Nishitani *et al.* 2006; Caderano *et al.* 2009; Hosaka *et al.* 2009; Sadek *et al.* 2010a; Sadek *et al.* 2010b; Sadek *et al.* 2010c; Souza Júnior 2015).

Inversamente à grande maioria dos estudos laboratoriais avaliados e às indicações dos fabricantes, existem autores que sugerem que os 20 segundos de polimerização indicados pelos seriam inferiores ao tempo ideal de polimerização, originando uma percentagem muito elevada de fraturas coesivas (Cadenaro *et al.* 2005; Silva, 2008; Pequeno, 2009). Portanto, no presente estudo, optou-se por polimerizar os incrementos de compósito durante 40 segundos e a restauração final sofreu ainda uma polimerização

adicional de 20 segundos por cada face com o intuito de evitar, então, fraturas coesivas em compósito durante os testes de microtração.

A primeira hipótese nula testada postulava que não existiam diferenças estatisticamente significativas entre as forças de adesão criadas com a técnica EWB simplificada e EWB progressivo, às 24h. A segunda hipótese advogava que não existiam diferenças estatisticamente significativas entre as forças de adesão criadas com a técnica EWB simplificada e o método convencional WWB, às 24h. Estas duas hipóteses nulas devem ser aceites uma vez que não foram demonstradas diferenças estatisticamente significativas de forças de adesão imediata entre os três grupos, quando submetidos a forças de microtração.

Os resultados obtidos neste estudo estão em consonância com vários estudos anteriores que referem não existir diferenças estatisticamente significativas, às 24h, entre as técnicas WWB e EWB simplificadas, apesar da diversidade de protocolos utilizados (Hosaka *et al.* 2009; Guimarães *et al.* 2012; Ekambaram *et al.* 2014; Manso *et al.* 2014; Yesilyurt *et al.* 2015). No estudo de Guimarães e seus colaboradores, em 2012, foram testadas as técnicas WWB e EWB simplificado (etanol 100% durante 30 segundos) sobre dentina desmineralizada e com recurso a adesivos de marcas comerciais *etch-and-rinse* de 3 passos (Adper Scotchbond Multipurpose) e 2 passos (Adper Single Bond 2) e demonstrou-se ausência de diferenças significativas nas forças de adesão imediata entre as duas técnicas, independentemente do sistema adesivo utilizado (Guimarães *et al.* 2012). Também Araújo e seus colegas, no mesmo ano, utilizaram duas concentrações de etanol por ordem crescente (50% e 100% durante 20 segundos cada) com o adesivo comercial *etch-and-rinse* de 3 passos (Adper Scotchbond Multipurpose), obtendo a mesma conclusão que o autor anterior. Neste estudo utilizou-se um adesivo *etch-and-rinse* de 3 passos, relativamente hidrofílico com etanol como solvente, que é considerado o sistema adesivo *gold-standard* em termos de durabilidade de adesão - OptiBond FL (Kerr, Itália), o que poderá ter contribuído para os resultados obtidos (De Munck *et al.* 2005; De Munck *et al.*, 2006; Tay *et al.* 2007). A inexistência de diferenças estatisticamente significativas entre EWBs e WWB às 24 horas pode estar relacionada com o facto da saturação da dentina em etanol aproximar o valor do parâmetro de solubilidade de Hoy para as forças polares da matriz de colagénio ao valor do mesmo parâmetro das resinas solvas em etanol, o que pode melhorar o molhamento das fibras de colagénio e a penetração das resinas (Nishitani *et al.*, 2006). Segundo Tay e seus colaboradores, em 2007, a sequência de aplicação da técnica EWB permite melhorar a

miscibilidade do adesivo e matriz de colagénio, possibilitando a impregnação do *primer* hidrofóbico na matriz saturada por etanol, indicando a diluição do adesivo em etanol como um passo crucial para esta técnica (Tay *et al.* 2007). A aplicação sequencial das duas concentrações de etanol utilizadas neste estudo (70% e 96%) parece vantajosa e talvez tenha contribuído para a ausência de diferenças estatisticamente significativas das forças de adesão demonstradas entre a técnica EWBs e a técnica convencional WWB.

Apesar de terem sido referidos diferentes protocolos, alguns estudos apresentaram diferenças quanto às forças de adesão entre protocolos EWB simplificados e a técnica WWB, às 24h, ao contrário do presente estudo (Osorio *et al.* 2010; Huang *et al.* 2011; Ayar *et al.* 2014). Estes podem dever-se, em parte, à elevada sensibilidade da técnica inerente à filosofia EWB, com a possível incompleta substituição da água por etanol, levando a uma deficiente infiltração das resinas hidrofóbicas (Osorio *et al.* 2010; Huang *et al.* 2011; Mortazavi *et al.* 2012). Aliás, segundo Tay e seus colaboradores, qualquer molécula de água que permaneça na matriz de colagénio irá interferir com a penetração das resinas hidrofóbicas, já que estas possuem uma limitada solubilidade em solvente aquoso (Tay *et al.* 2007). Além disso, e independentemente da técnica EWB simplificada, se a aplicação do etanol não for cuidada e realizada com precisão de forma a proteger a matriz saturada de água do contacto com o ar, a tensão superficial criada na interface colagénio-ar, pode facilmente provocar o colapso da matriz de colagénio, conduzindo a uma penetração insuficiente dos monómeros de resina (Osorio *et al.* 2010; Khoroushi *et al.* 2014). Osorio e seus colaboradores demonstraram que, dependendo do protocolo aplicado, ocorriam diferentes alterações topográficas na matriz de colagénio. Comparativamente ao que acontece na técnica WWB, com a aplicação etanol sobre a matriz dentinária saturada com água, as fibrilhas de colagénio tornam-se mais estreitas e os espaços interfibrilares aumentam (Tay *et al.* 2007). Para frisar a sensibilidade da técnica EWB, surge ainda na literatura que o estreitamento das fibrilhas de colagénio deve ser proporcional à concentração de etanol final na matriz (Becker *et al.*, 2006; Osorio *et al.* 2010). Os aspetos referidos podem ser responsáveis pela disparidade de conclusões.

Neste estudo, o tipo de falha predominante nos três grupos estudados foi do tipo adesiva (A), o que se provou uma vantagem dado que, segundo a literatura, uma avaliação precisa da força de um material adesivo é melhor determinada quando a falha ocorre no próprio material e não envolve compósito ou dentina (Sano *et al.* 1994; Ghassemieh 2008). Sano e seus colegas referem, ainda, que falhas coesivas em compósito em testes de microtração *in-vitro* não são representativas de situações clínicas, limitando a

interpretação das forças de microtração (Sano *et al.* 1994). De facto, para evitar fraturas coesivas quando se testam forças de adesão, é necessário melhorar a distribuição do *stress* criado durante estes testes (Pashley *et al.* 1999). Neste estudo, optou-se pelo teste de microtração com recurso a palitos, já que são os que apresentam menor localização da concentração de *stress* e a técnica de preparação é menos sensível, comparativamente às outras formas possíveis de haltere e ampulheta (Pashley *et al.* 1999; Ghassemieh 2008; Van Meerbeek *et al.* 2010).

Cada grupo testado neste estudo é composto de 5 dentes, que é apontado como o número mínimo aceitável, de forma a garantir a vantagem da rentabilidade dos testes μ TBS (Van Meerbeek *et al.* 2010; Armstrong *et al.* 2017). A inclusão das falhas de palitos pré-teste na análise estatística com um valor pré-determinado e diferente de zero também respeita o que surge descrito na literatura (Van Meerbeek *et al.* 2010). Neste estudo, o valor, em MPa, atribuído a estes palitos foi metade do valor mínimo de MPa obtido durante os testes de microtração aos palitos dos três grupos (Luque-Martinez *et al.* 2014; Armstrong *et al.* 2017)

A existência de pouca literatura acerca do tema EWB revelou-se uma limitação para a elaboração deste estudo laboratorial, dificultando a estruturação do mesmo. Além disso, os estudos publicados apresentam protocolos diferenciados, dificultando também a comparação dos resultados obtidos.

O facto de a força de adesão ter sido testada após 24h dos procedimentos restauradores pode ser apontada como uma limitação. O desenho deste estudo não permitiu o envelhecimento dos espécimes e a análise das possíveis alterações da camada híbrida a longo prazo, não podendo corroborar a filosofia inerente à técnica EWB, que postula um aumento da longevidade dos sistemas adesivos. Serão necessários mais estudos a longo prazo avaliando as mesmas variáveis.

Além de se proporem mais estudos a longo prazo, sugere-se ainda que sejam elaborados estudos sobre a técnica EWB em dentina terciária, uma vez que em situação clínica, a aplicação dos sistemas adesivos será feita, em grande parte, sobre dentes afetados previamente por lesões de cárie.

Devido à natureza experimental *in vitro* deste estudo, os resultados obtidos não podem ser extrapolados para uma situação *in vivo*.

CONCLUSÃO

Este estudo laboratorial permite concluir que não existem diferenças estatisticamente significativas entre a aplicação da técnica WWB com o sistema adesivo *gold-standard* OptiBond FL (Kerr, Itália) e a aplicação de um protocolo EWB simplificado utilizando materiais acessíveis e com o tempo de aplicação clínico reduzido. É possível concluir também que a aplicação de concentrações de etanol a 70% e 96%, durante 30 segundos cada, permite obter forças de adesão imediatas estatisticamente semelhantes aos protocolos WWB e EWB progressivo, nos testes de microtração.

São necessários, no entanto, mais estudos laboratoriais com o protocolo apresentado, com um *follow-up* mais extenso para que seja possível avaliar os seus efeitos nas forças de adesão a longo prazo. Além disso, devem ser conduzidos mais estudos em substratos diferentes, como em dentina terciária, em associação com estudos *in-vivo* para desvendar os efeitos clínicos, a longo prazo, deste protocolo, suportando ou não a sua utilização.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agee, Kelli A., Anuradha Prakki, Tariq Abu-Haimed, Ghada H. Naguib, Manar Abu Nawareg, Arzu Tezvergil-Mutluay, Debora L S Scheffel, et al. 2015. "Water Distribution in Dentin Matrices: Bound vs. Unbound Water." *Dental Materials* 31 (3). The Academy of Dental Materials: 205–16. doi:10.1016/j.dental.2014.12.007.
- Agee, Kelli A., Becker, Thomas D., Joyce, Anthony P., Reggeberg, Frederick A., Borke, James L., Waller, Jennifer L., Tay, Franklin R., Phasley, David H 2006. " Net expansion of dried demineralized dentin matrix produced by monomer/alcohol saturation and solvent evaporation". " Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com). DOI: 10.1002/jbm.a.30752
- Armstrong, Steve, Lorenzo Breschi, Mutlu ??zcan, Frank Pfefferkorn, Marco Ferrari, and Bart Van Meerbeek. 2017. "Academy of Dental Materials Guidance on in Vitro Testing of Dental Composite Bonding Effectiveness to Dentin/enamel Using Micro-Tensile Bond Strength (??TBS) Approach." *Dental Materials* 33 (2). The Academy of Dental Materials: 133–43. doi:10.1016/j.dental.2016.11.015.
- Ayar, Muhammet Kerim. 2014. "Effect of Simplified Ethanol-Wet Bonding on Microtensile Bond Strengths of Dentin Adhesive Agents with Different Solvents." *Journal of Dental Sciences*, 1–5. doi:10.1016/j.jds.2014.06.001.
- . 2016. "A Review of Ethanol Wet-Bonding: Principles and Techniques." *European Journal of Dentistry* 10 (1): 155–59. doi:10.4103/1305-7456.175687.
- Ayar, Muhammet Kerim, Cemal Yesilyurt, Cemile Kedici Alp, and Tahsin Yildirim. 2014. "Effect of Ethanol-Wet-Bonding Technique on Resin-Enamel Bonds." *Journal of Dental Sciences* 9 (1). Elsevier Taiwan LLC: 16–22. doi:10.1016/j.jds.2012.10.008.
- Becker, Thomas D., Agee, Kelli A. Joyce, Anthony P., Reggeberg, Frederick A., Borke, James L., Waller, Jennifer L., Tay, Franklin R., Phasley, David H 2007. " Infiltration/Evaporation-Induced Shrinkage of Demineralized Dentin by Solvated Model Adhesives". *Wiley Periodicals, Inc. J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 80B: 156–165, 2007
- Breschi, Lorenzo, Annalisa Mazzoni, Alessandra Ruggeri, Milena Cadenaro, Roberto Di Lenarda, and Elettra De Stefano Dorigo. 2008. "Dental Adhesion Review: Aging and Stability of the Bonded Interface." *Dental Materials* 24 (1): 90–101. doi:10.1016/j.dental.2007.02.009.

- Cadenaro, Milena, Francesca Antonioli, Salvatore Sauro, Franklin R. Tay, Roberto Di Lenarda, Carlo Prati, Matteo Biasotto, Luca Contardo, and Lorenzo Breschi. 2005. "Degree of Conversion and Permeability of Dental Adhesives." *European Journal of Oral Sciences* 113 (6): 525–30. doi:10.1111/j.1600-0722.2005.00251.x.
- Cardoso, M. V., A. De Almeida Neves, A. Mine, E. Coutinho, K. Van Landuyt, J. De Munck, and B. Van Meerbeek. 2011. "Current Aspects on Bonding Effectiveness and Stability in Adhesive Dentistry." *Australian Dental Journal* 56 (SUPPL. 1): 31–44. doi:10.1111/j.1834-7819.2011.01294.x.
- Eddleston CL, Hindle AR, Agee KA, Carvalho RM, Tay FR, Rueggeberg FA, Pashley DH. 2003. "Dimensional Changes in Acid Demineralized Dentin Matrices Following the Use of HEMA-Water versus HEMA Alcohol Primers." *J Biomed Mater Res A*. 2003 Dec 1;67(3):900-7 67 (3): 900–907.
- Ekambaram, Manikandan, Cynthia Kar Yung Yiu, Jukka Pekka Matinlinna, Jeffrey Wen Wei Chang, Franklin Russell Tay, and Nigel Martyn King. 2014. "Effect of Chlorhexidine and Ethanol-Wet Bonding with a Hydrophobic Adhesive to Intraradicular Dentine." *Journal of Dentistry* 42 (7). Elsevier Ltd: 872–82. doi:10.1016/j.jdent.2014.02.006.
- Faria-E-Silva, André Luis, José Everton Araújo, Gilliane Pereira Rocha, Aline Da Silva De Oliveira, and Rafael Ratto de Moraes. 2012. "Solvent Content and Dentin Bond Strengths Using Water-Wet, Ethanol-Wet and Deproteinization Bonding Techniques." *Acta Odontologica Scandinavica*, 1–6. doi:10.3109/00016357.2012.715195.
- Garcia, Fernanda C P, Masayuki Otsuki, David H. Pashley, Franklin R. Tay, and Ricardo M. Carvalho. 2005. "Effects of Solvents on the Early Stage Stiffening Rate of Demineralized Dentin Matrix." *Journal of Dentistry* 33 (5): 371–77. doi:10.1016/j.jdent.2004.10.013.
- Ghassemieh, Elaheh. 2008. "Evaluation of Sources of Uncertainties in Microtensile Bond Strength of Dental Adhesive System for Different Specimen Geometries." *Dental Materials* 24 (4): 536–47. doi:10.1016/j.dental.2007.06.022.
- Göstemeyer, Gerd, and Falk Schwendicke. 2016. "Inhibition of Hybrid Layer Degradation by Cavity Pretreatment: Meta- and Trial Sequential Analysis." *Journal of Dentistry* 49. Elsevier Ltd: 14–21. doi:10.1016/j.jdent.2016.04.007.
- Guimarães, Leandro Afonso, Júlio César Franco Almeida, Linda Wang, Paulo Henrique Perlatti D'Alpino, and Fernanda Cristina Pimentel Garcia. 2012. "Effectiveness of

- Immediate Bonding of Etch-and-Rinse Adhesives to Simplified Ethanol-Saturated Dentin.” *Brazilian Oral Research* 26 (2): 177–82. doi:10.1590/S1806-83242012000200015.
- Hashimoto, M., H. Ohno, M. Kaga, H. Sano, K. Endo, and H. Oguchi. 2002. “Fractured Surface Characterization: Wet versus Dry Bonding.” *Dental Materials* 18 (2): 95–102. doi:10.1016/S0109-5641(01)00023-9.
- Huang, Xueqing, Li Li, Cui Huang, and Xijin Du. 2011. “Effect of Ethanol-Wet Bonding with Hydrophobic Adhesive on Caries-Affected Dentine.” *European*
- Araújo JF, Barros TA, Braga EM, Loretto SC, Silva e Souza Pde A, Silva e Souza MH. “One-year evaluation of a simplified ethanol-wet bonding technique: a randomized clinical trial”. *Braz Dent J*. 2013;24(3):267-72.
- Khoroushi, Maryam, Mojgan Rafizadeh, and Pouran Samimi. 2014. “Bond Strength of Composite Resin to Enamel: Assessment of Two Ethanol Wet-Bonding Techniques.” *Journal of Dentistry (Tehran, Iran)* 11 (2): 150–60. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4043546/%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4043546/pdf/jod-11-150.pdf>.
- Kuhn, Eunice, Patrícia Farhat, Ana Paula Teitelbaum, Alexandra Mena-Serrano, Alessandro D. Loguercio, Alessandra Reis, and David H. Pashley. 2015. “Ethanol-Wet Bonding Technique: Clinical versus Laboratory Findings.” *Dental Materials* 31 (9). The Academy of Dental Materials: 1030–37. doi:10.1016/j.dental.2015.05.010.
- Li, Fang, Xiao-Yang Liu, Ling Zhang, Jun-Jun Kang, and Ji-Hua Chen. 2012. “Ethanol-Wet Bonding Technique May Enhance the Bonding Performance of Contemporary Etch-and-Rinse Dental Adhesives.” *The Journal of Adhesive Dentistry* 14 (2): 113–20. doi:10.3290/j.jad.a21853.
- Liu, Y, L Tjäderhane, L Breschi, A Mazzoni, N Li, J Mao, D H Pashley, and F R Tay. 2011. “Limitations in Bonding to Dentin and Experimental Strategies to Prevent Bond Degradation.” *Journal of Dental Research* 90: 953–68. doi:10.1177/0022034510391799.
- Luque-Martinez, Issis V., Jorge Perdigão, Miguel A. Mnoz, Ana Sezinando, Alessandra Reis, and Alessandro D. Loguercio. 2014. “Effects of Solvent Evaporation Time on Immediate Adhesive Properties of Universal Adhesives to Dentin.” *Dental Materials* 30 (10): 1126–35. doi:10.1016/j.dental.2014.07.002.
- Malacarne, Juliana, Ricardo M. Carvalho, Mario F. de Goes, Nadia Svizero, David H. Pashley, Franklin R. Tay, Cynthia K. Yiu, and Marcela Rocha de Oliveira Carrilho.

2006. “Water Sorption/solubility of Dental Adhesive Resins.” *Dental Materials* 22 (10): 973–80. doi:10.1016/j.dental.2005.11.020.
- Manso, Adriana Pigozzo, Rosa Helena Miranda Grande, Ana Karina Bedran-Russo, Alessandra Reis, Alessandro D. Loguercio, David Henry Pashley, and Ricardo Marins Carvalho. 2014. “Can 1% Chlorhexidine Diacetate and Ethanol Stabilize Resin-Dentin Bonds?” *Dental Materials* 30 (7). The Academy of Dental Materials: 735–41. doi:10.1016/j.dental.2014.04.003.
- Meerbeek, B. Van, M. Peumans, A. Poitevin, A. Mine, A. Van Ende, A. Neves, and J. De Munck. 2010. “Relationship between Bond-Strength Tests and Clinical Outcomes.” *Dental Materials* 26 (2): 100–121. doi:10.1016/j.dental.2009.11.148.
- Meerbeek, B. Van, K. Yoshihara, Y. Yoshida, A. Mine, J. De Munck, and K. L. Van Landuyt. 2011. “State of the Art of Self-Etch Adhesives.” *Dental Materials* 27 (1). The Academy of Dental Materials: 17–28. doi:10.1016/j.dental.2010.10.023.
- Mortazavi, Vajihesadat, Poursan Samimi, Mojgan Rafizadeh, and Shantia Kazemi. 2012. “A Randomized Clinical Trial Evaluating the Success Rate of Ethanol Wet Bonding Technique and Two Adhesives.” *Dent Res J (Isfahan)* 9 (5): 588–94.
- Mu-zi LI, Jin-rui WANG, Hong LIU†‡, Xia WANG, Kang GAN, Xiu-ju LIU, De-li NIU, Xiao-qing SONG. 2016. “Effects of Light Curing Modes and Ethanol-Wet Bonding on Dentin Bonding Properties *.” *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology)* 17 (9): 703–11. doi:10.1631/jzus.B1600055.
- Munck, J. De, K. Van Landuyt, M. Peumans, A. Poitevin, P. Lambrechts, M. Braem, and B. Meerbeek Van. 2005. “A Critical Review of the Durability of Adhesion to Tooth Tissue: Methods and Results.” *Journal of Dental Research* 84 (2): 118–32. doi:10.1111/j.1708-8240.2009.00315.x.
- Munck, J. De, M. Peumans, P. Kanumilli, K. Van Landuyt, P. Lambrechts, and B. Van Meerbeek. 2005. “Clinical Effectiveness of Contemporary Adhesives: A Systematic Review of Current Clinical Trials.” *Dental Materials* 21 (9): 864–81. doi:10.1016/j.dental.2005.02.003.
- Munck, J De, P E Van den Steen, A Mine, K L Van Landuyt, A Poitevin, G Opdenakker, and B Van Meerbeek. 2009. “Inhibition of Enzymatic Degradation of Adhesive-Dentin Interfaces.” *Journal of Dental Research* 88 (12): 1101–6. doi:10.1177/0022034509346952.
- Nishitani, Y, M Yoshiyama, A M Donnelly, K A Agee, J Sword, F R Tay, and D H Pashley. 2006. “Effects of Resin Hydrophilicity on Dentin Bond Strength.” *Journal*

- of Dental Research* 85 (11): 1016–21. doi:10.1177/154405910608501108.
- Osorio, E, M Toledano, F S Aguilera, F R Tay, and R Osorio. 2010. “Ethanol Wet-Bonding Technique Sensitivity Assessed by AFM.” *J Dent Res* 89 (11): 1264–69. doi:10.1177/0022034510376403.
- Pashley, D.H., R.M. Carvalho, H. Sano, M. Nakajima, M. Yoshiyama, Y. Shono, C.A. Fernandes, and F. Tay. 1999. “The Microtensile Bond Test: A Review.” *The Journal of Adhesive Dentistry* 1 (4): 299–309. <http://ukpmc.ac.uk/abstract/MED/11725659>.
- Pashley, David H., Franklin R. Tay, Lorenzo Breschi, Leo Tjäderhane, Ricardo M. Carvalho, Marcela Carrilho, and Arzu Tezvergil-Mutluay. 2011. “State of the Art Etch-and-Rinse Adhesives.” *Dental Materials* 27 (1). The Academy of Dental Materials: 1–16. doi:10.1016/j.dental.2010.10.016.
- Pashley DH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM (1995). Adhesion testing of dentin bonding agents: a review. *Dent Mater* 11:117-125.
- Pei, Dandan, Xueqing Huang, Cui Huang, Yake Wang, Xiaobai Ouyang, and Jing Zhang. 2012. “Ethanol-Wet Bonding May Improve Root Dentine Bonding Performance of Hydrophobic Adhesive.” *Journal of Dentistry* 40 (5). Elsevier Ltd: 433–41. doi:10.1016/j.jdent.2012.02.005.
- Perdigão, Jorge, Alessandra Reis, and Alessandro D. Loguercio. 2013. “Dentin Adhesion and MMPs: A Comprehensive Review.” *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry* 25 (4): 219–41. doi:10.1111/jerd.12016.
- Sadek, F.T., R.R. Braga, A. Muench, Y. Liu, D.H. Pashley, and F.R. Tay. 2010. “Ethanol Wet-Bonding Challenges Current Anti-Degradation Strategy.” *Journal of Dental Research* 89 (12): 1499–1504. doi:10.1177/0022034510385240.
- Sadek, Fernanda T., Carina S. Castellan, Roberto R. Braga, Sui Mai, Leo Tjäderhane, David H. Pashley, and Franklin R. Tay. 2010. “One-Year Stability of Resin-Dentin Bonds Created with a Hydrophobic Ethanol-Wet Bonding Technique.” *Dental Materials* 26 (4): 380–86. doi:10.1016/j.dental.2009.12.009.
- Sadek, Fernanda T., Annalisa Mazzoni, Lorenzo Breschi, Franklin R. Tay, and Roberto R. Braga. 2010. “Six-Month Evaluation of Adhesives Interface Created by a Hydrophobic Adhesive to Acid-Etched Ethanol-Wet Bonded Dentine with Simplified Dehydration Protocols.” *Journal of Dentistry* 38 (4). Elsevier Ltd: 276–83. doi:10.1016/j.jdent.2009.11.007.
- Sano, Hidehiko, Tsunekazu Shono, Hidekazu Sonoda, Toshio Takatsu, Bernard Ciucchi, Ricardo Carvalho, and David H. Pashley. 1994. “Relationship between Surface Area

- for Adhesion and Tensile Bond Strength- Evaluation of a Micro-Tensile Bond Test.” *Dental Materials Journal* 10 (4): 236–40.
- Sauro, Salvatore, Manuel Toledano, Fatima Sánchez Aguilera, Francesco Mannocci, David H. Pashley, Franklin R. Tay, Timothy F. Watson, and Raquel Osorio. 2011. “Resin-Dentin Bonds to EDTA-Treated vs. Acid-Etched Dentin Using Ethanol Wet-Bonding. Part II: Effects of Mechanical Cycling Load on Microtensile Bond Strengths.” *Dental Materials* 27 (6). The Academy of Dental Materials: 563–72. doi:10.1016/j.dental.2011.02.010.
- Sauro, Salvatore, Timothy F Watson, Francesco Mannocci, Franklin R Tay, and David H Pashley. 2009. “Prevention of Water Contamination of Ethanol-Saturated Dentin and Hydrophobic Hybrid Layers.” *The Journal of Adhesive Dentistry* 11 (4): 271–78. doi:10.3290/j.jad.a17073.
- Sauro S, Toledano M, Aguilera FS, Mannocci F, Pashley DH, Tay FR, et al. Resin-dentin bonds to EDTA-treated vs. acid-etched dentin using ethanol wet-bonding. *Dent Mater* 2010;26:368-79
- Shin TP, Yao X, Huenergardt R, Walker MP, Wang Y. Morphological and chemical characterization of bonding hydrophobic adhesive to dentin using ethanol wet bonding technique. *Dent Mater* 2009;25:1050-7.
- Souza Júnior, Mário Honorato Silva. 2015. “Is the Ethanol Wet-Bonding Technique a Promising One ?” *Int. J. Odontostomat.* 9 (3): 463–68.
- Spencer, Paulette, Qiang Ye, Jonggu Park, Elizabeth M Topp, Anil Misra, Yong Wang, Brenda S Bohaty, et al. 2011. “NIH Public Access” 38 (6): 1989–2003. doi:10.1007/s10439-010-9969-6.Adhesive/Dentin.
- Spencer, P, Q Ye, a Misra, S E P Goncalves, and J S Laurence. 2014. “Proteins, Pathogens, and Failure at the Composite-Tooth Interface.” *Journal of Dental Research* 93 (12): 1243–49. doi:10.1177/0022034514550039.
- Tay, F R, D H Pashley, R R Kapur, M R O Carrilho, Y B Hur, L V Garrett, and K C Y Tay. 2007. “Bonding BisGMA to Dentin — a Proof of Concept for Hydrophobic Dentin Bonding.” *Journal of Dental Research* 86 (11): 1034–39. doi:10.1177/154405910708601103.
- Tjäderhane, L. 2015. “Dentin Bonding: Can We Make It Last?” *Operative Dentistry* 40 (1): 4–18. doi:10.2341/14-095-BL.
- Tjäderhane, Leo, Fabio D. Nascimento, Lorenzo Breschi, Annalisa Mazzoni, Ivarne L S Tersariol, Saulo Geraldelli, Arzu Tezvergil-Mutluay, et al. 2013. “Strategies to

Prevent Hydrolytic Degradation of the Hybrid Layer - A Review.” *Dental Materials* 29 (10). The Academy of Dental Materials: 999–1011. doi:10.1016/j.dental.2013.07.016.

Yesilyurt, Cemal, Muhammet Kerim Ayar, Tahsin Yildirim, and Mustafa Sadik Akdag. 2015. “Effect of Simplified Ethanol-Wet Bonding on Dentin Bonding Durability of Etch-and-Rinse Adhesives.” *Dental Materials Journal* 34 (4): 441–48. doi:10.4012/dmj.2014-335.

ANEXOS

ANEXO I

Tabela 8- Produtos utilizados no estudo e respetivo fabricante, composição, validade e lote			
Produto	Fabricante	Composição	Validade e lote
Ventura Etching Gel	Madespa, S.A	Ácido fosfórico (37,0%) Espessante (8,0%) Água (54,7%) Dispersante colorante	Val 06/2019 Lote 1692-19782
OptiBond™FL	Kerr Itália S.r.l	Primer: HEMA, GPDM, PAMM, CQ, 29 vol% etanol, 23 vol% água	Val 09/2018 Lote 6078934
		Adesivo: Bis-GMA, GDMA, HEMA, TEGDMA, UDMA, CQ*	Val 03/2018 Lote 6080741
Ventura NanoLux	Madespa, S.A Espanha	Resina base Bis-GMA Partículas de carga de vidro radiopaco Sílica Polímero em pó Catalizador Estabilizadores de cor Pigmentos	Val 08/2019 Lote 1173-20657
Álcool 70% Vol	Wells, Continente, Portugal	Álcool etílico 70% vol 0,25% cetrimida	Val 11/2021 Lote 16000823
Álcool 70% Vol	Wells, Continente, Portugal	Álcool etílico 96% vol 0,25% cetrimida	Val 01/2022 Lote 17000041

Abreviaturas: bis-GMA – bisfenol A glicidildimetacrilato; BHT - 2,6-di-(tert-butil)-metilfenol; CQ - canforoquinona; GDMA - glicerol dimetacrilato; GPDM – glicerol fosfato dimetacrilato; HEMA - 2-hidroxietil metacrilato; MEHQ - 4-metoxifenol; ODMAB: 2-(etilhexil)-4-(dimetilamino)benzoato; PAMM - ftálico ácido mono etilmetacrilato; TEGDMA – tri(etileno glicol) dimetacrilato; UDMA – uretano dimetacrilato.

*mistura de silicato de bário e alumínio com partículas de nano-sílica.

ANEXO II

Tabela 9- Caracterização dos palitos obtidos por grupo e por dente.					
Grupo	Dente	Palitos obtidos	Fraturas pré-teste	Palitos tracionados	Palitos testados por grupo
1 (WWB)	1.1	26	2	24	110
	1.2	24	0	24	
	1.3	20	0	20	
	1.4	27	0	27	
	1.5	15	0	15	
2 (EWBp)	2.1	33	6	27	116
	2.2	20	2	18	
	2.3	26	2	24	
	2.4	27	2	25	
	2.5	25	3	22	
3 (EWBs)	3.1	24	0	24	111
	3.2	25	0	25	
	3.3	24	0	24	
	3.4	16	0	16	
	3.5	24	2	22	
Total		356	19	337	

ANEXO III

Indicações do fabricante para a utilização do sistema adesivo OptiBond™ FL

1. Aplicar ácido fosfórico a 37.5 % no esmalte e dentina 15 segundos; lavar abundantemente (15 segundos) e secar sem desidratar
2. Aplicar primer (frasco 1) no esmalte e dentina 15 segundos; secar 5 segundos
3. Aplicar o adesivo (frasco 2) sobre esmalte e dentina e aplicar levemente ar
4. Fotopolimerizar 10 segundos
5. Aplicar resina composta em incrementos 2 mm e fotopolimerizar cada incremento 20 segundos